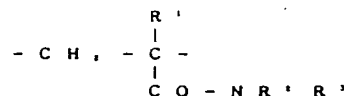


## (54) DRY TYPE ANALYZING ELEMENT STABILIZED WITH DYE PRECURSOR

- (11) 62-228947 (A) (43) 7.10.1987 (19) JP  
 (21) Appl. No. 61-70919 (22) 31.3.1986  
 (71) FUJI PHOTO FILM CO LTD (72) SHIGEKI KAGEYAMA(2)  
 (51) Int. Cl. G01N33/52, C12Q1/00, G01N31/22

**PURPOSE:** To improve the stability of a hydrophilic high molecular compd. of a layer contg. a formazan dye formable electron receptive compd. by using a polymer of the monomer component expressed by the formula as said high molecular compd.

**CONSTITUTION:** The formazan dye formable electron receptive compd. of a dry type analyzing element contg. an oxidation type nicotinamide coenzyme, electron transmittable compd. and formazan dye formable electron receptive compd. as a detecting reagent system exists in the layer consisting of the hydrophilic high molecular compd. binder. Said hydrophilic high molecular compd. is constituted of the polymer of the monomer component expressed by the formula or the copolymer of said monomer component and the other monomer component which can copolymerize therewith. In the formula, R<sup>1</sup> denotes a hydrogen atom or lower alkyl group, R<sup>2</sup> and R<sup>3</sup> respectively denote a hydrogen atom, aliphatic hydrocarbon group or aromatic hydrocarbon group which may be the same or different. R<sup>2</sup> and R<sup>3</sup> may form a ring.



## (54) MEASURING METHOD FOR ANTIGEN OR ANTIBODY

- (11) 62-228948 (A) (43) 7.10.1987 (19) JP  
 (21) Appl. No. 61-70936 (22) 31.3.1986  
 (71) KARUPISU SHOKUHIN KOGYO K.K.(1) (72) FUMIAKI TAGUCHI(4)  
 (51) Int. Cl. G01N33/53, C12Q1/00, G01N33/542

**PURPOSE:** To make easy and quick measurement with high sensitivity by bringing a complement constituting component conjugated with an antigen, antibody and labeled matter which is increased in activity or is made easily recognizable by aggregation into reaction and making quantitative determination of the conjugated labeled matter.

**CONSTITUTION:** The complement constituting component conjugated with the antigen, antibody and the complement which is increased in activity or is made easily recognizable by aggregation is brought into reaction. The conjugated labeled matter is then quantitatively determined without removing the unconjugated matter, by which the antigen or antibody is measured. The complement constituting component may be any components of a complement system; for example, complements C4, C2, C3, C1q, etc., can be adequately selected. The reaction of the complement constituting component conjugated with the antigen, antibody and the labeled matter is caused in the state of fixing, suspending or dissolving the antigen or antibody. Since the labeled matter which is increased in activity or is made easily recognizable by the aggregation is used, the activity with which only the labeled matter aggregated by the conjugation can be quantitatively determined is exhibited. The quantitative determination of the labeled matter is, thereupon, made possible even if the unconjugated labeled matter is not removed.

## (54) MEASURING METHOD FOR ANTIGEN OR ANTIBODY

- (11) 62-228949 (A) (43) 7.10.1987 (19) JP  
 (21) Appl. No. 61-70937 (22) 31.3.1986  
 (71) KARUPISU SHOKUHIN KOGYO K.K.(1) (72) FUMIAKI TAGUCHI(4)  
 (51) Int. Cl. G01N33/53

**PURPOSE:** To eliminate the need for an instrument made of a special material and to measure an antigen or antibody in a short period by bringing the antigen, antibody and complement constituting component conjugated labeled matter into reaction in a suspended or dissolved state.

**CONSTITUTION:** The antigen or antibody is measured by bringing the antigen, antibody and the complement constituting component conjugated the labeled matter into reaction in the suspended or dissolved state, then removing the unconjugated matter and quantitatively determining the conjugated labeled matter. Since the antigen, antibody and the complement constituting component conjugated with the labeled matter are brought into reaction in the suspended or dissolved state, the use of a vessel made of the special material having good adsorptivity for fixing the antigen, etc., is not always required. The conjugate formed after the reaction of the antigen, antibody and the labeled complement constituting component is separated. The excessive labeled complement constituting component failing to be brought into the reaction and the materials which act disturbingly in the subsequent process are removed by such operation.

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-228947

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)10月7日

G 01 N 33/52  
C 12 Q 1/00  
G 01 N 31/22

1 2 1

8305-2G  
8412-4B  
8506-2G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全15頁)

⑮ 発明の名称 染料前駆体が安定化された乾式分析要素

⑯ 特 願 昭61-70919

⑰ 出 願 昭61(1986)3月31日

⑱ 発 明 者 景 山 茂 樹 朝霞市泉水3-11-46 富士写真フイルム株式会社内  
⑱ 発 明 者 加 藤 希 緯 子 朝霞市泉水3-11-46 富士写真フイルム株式会社内  
⑱ 発 明 者 勝 山 春 海 朝霞市泉水3-11-46 富士写真フイルム株式会社内  
⑲ 出 願 人 富士写真フイルム株式 南足柄市中沼210番地  
会社  
⑳ 代 理 人 弁理士 柳川 泰男

明 細 書

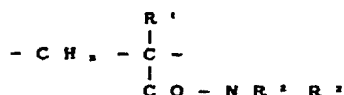
1. 発明の名称

染料前駆体が安定化された乾式分析要素

2. 特許請求の範囲

検出試薬系として、酸化型ニコチンアミド補酵素と、電子伝達性化合物と、染料を形成し得る電子受容性化合物とを有する乾式分析要素であって、フォルマザン染料を形成し得る電子受容性化合物が親水性高分子結合剤から成る層中に存在し、該親水性高分子が、下記的一般式〔I〕または〔II〕で表わされる単量体成分の重合体または該単量体成分と共重合し得る他の単量体成分との共重合体であることを特徴とする乾式検体分析要素：

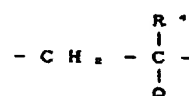
〔I〕



〔式中、R<sup>1</sup>は水素原子または低級アルキル基を表す、R<sup>2</sup>およびR<sup>3</sup>は各々水素原子、脂肪族

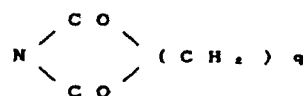
炭化水素基または芳香族炭化水素基を表わし、互いに同じでも、異っていてもよい。またR<sup>2</sup>とR<sup>3</sup>が連結して環を形成してもよい。〕

〔II〕



〔式中R<sup>4</sup>はR<sup>1</sup>と同義である。Qは

(1)



(ここでqは2ないし4の整数を表わす)

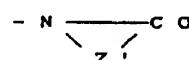
(2)



(ここでR<sup>5</sup>は炭素数1ないし4のアルキル基、R<sup>6</sup>は水素原子または炭素数ないし4のアルキル基を表わす)

または、

(3)



(Z<sup>1</sup>はピロリドン環、オキサソリドン環

またはビリドン環を形成するに要する原子群を示す)。

を表わす。】。

### 3. 発明の詳細な説明

#### 【技術分野】

本発明は、液体中に含まれる特定成分または酵素活性を定量するための乾式分析要素に関する。さらに詳しくは、本発明は、検出試薬系として酸化型ニコチンアミド補酵素と、電子伝達性化合物と、フォルマザン染料を形成し得る電子受容性化合物とを含む乾式分析要素に関するものである。

#### 【従来技術】

デヒドロゲナーゼ系酵素と補酵素とを共役反応系に組合わせた反応は臨床化学分析において広く用いられている。たとえば、グリセリンデヒドロゲナーゼ、コレストロールデヒドロゲナーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ、グルタメートデヒドロゲナーゼ、アルデヒドデヒドロゲナーゼ、α-グリセロフォスフェート

デヒドロゲナーゼ、グルコース-6-磷酸デヒドロゲナーゼ等が関与する反応系が、トリグリセリド、グリセリン、コレストロール、乳酸、グルタメート、グリセリン-3-磷酸、グルコース-6-磷酸等の基質や、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)、アミラーゼ、クレアチンキナーゼ(CK)等の酵素の定量に用いられており、還元型補酵素の増加または減少の直接測定によって定量分析ができる特徴がある。しかし通常用いられるNADH(ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)またはNADPH(ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドファスフェート)は、吸収極大が340nm付近にあるため、その光学的定量のためには、紫外域の測光装置が必要となり、機器が高価なものになる。また紫外域では多種の化合物が吸収を有するためそれらの干渉を受け易い。

NADH(またはNADPH)を紫外域吸収に

より直接に定量する代りに、NADHの存在下で、電子伝達性化合物を介して電子受容性化合物を還元し、可視領域において検出可能な化合物(染料)を形成する反応系が提案されている。

この反応系を利用すれば可視域において分光測定することによりNADHまたはNADPHの定量ができ、前者に比べてはるかに有利である。

しかしこの方法は下記のごとき欠点を有するためあまり多用されなかった。

1) フォルマザン染料形成前駆体である電子受容性化合物は、乳酸脱水素酵素(LDH)、グリセリン脱水素酵素(GDH)など多くの酵素の至適pHであるpH8ないし8.5付近で不安定で、NADHまたはNADPHの生成とは無関係な色素を形成する。

2) フォルマザン染料形成前駆体から誘導されるフォルマザン染料が水溶液中で沈殿を起こし、この沈殿に基づく精度の低下や分光光度計のセルの汚れをもたらす。

NADHまたはNADPHの存在下に、電子伝

達性化合物を介してフォルマザン染料形成電子受容性化合物を還元する反応を利用してNADHまたはNADPHの生成を検出する方法を、特公開53-21877号公報や特開昭55-164356号公報に記載されたような乾式一体型分析要素に適用した場合、前記のごとき染料形成前駆体からの好ましくない色素の形成による測定精度の低下が特に深刻な問題を生じた。なぜならば、染料形成前駆体を含む層を形成するための塗布組成物を調製後、塗布するまでの数分ないし十数分の間に、そのような望ましくない色素が形成されるか、またはその塗布組成物から塗布された層を有する多層乾式分析要素の保存中の望ましくない色素の形成が助長されるために、分析操作の実行時における背景濃度(以下カブリという)が上昇し、予め決定された検量線が適合しなくなる結果、測定精度が低下するからである。特に前記塗布組成物がゼラチンのごときポリペプチド構造を有する化合物を結合剤として含む場合には、このような望ましくない色素の形成が著しかった。

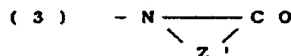
## 【発明の目的】

本発明の目的は、検出試薬系として酸化型ニコチンアミド補酵素、電子伝達性化合物およびフォルマザン染料形成性電子受容性化合物を有する乾式分析要素の製法および保存の過程におけるフォルマザン染料形成性電子受容性化合物の安定性を向上させることである。

## 【発明の要旨】

本発明の上記目的は、少なくとも一つの親水性結合剤から成る層中に、検出試薬系として酸化型ニコチンアミド補酵素、電子伝達性化合物およびフォルマザン染料を形成し得る電子受容性化合物を含有する乾式分析要素において、フォルマザン染料を形成し得る電子受容性化合物を含む層の親水性高分子として、ゼラチンのようなポリペプチドを用いるに、一般式【I】または【II】で表わされる単量体成分の重合体または共重合し得る他の単量体成分との共重合体を用いることによって、達成された。

または



(Z'はピロリドン環、オキサゾリドン環またはピリドン環を形成するに要する原子群を示す)

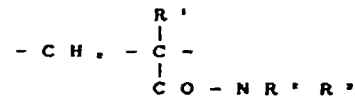
を表わす。

本発明は公知の多種の乾式分析要素に適用することができる。特に検出試薬系と被検液体がいずれも透過し得る固体担体を含む要素に適用することができる。要素は支持体、反応試薬層、検出層のほかに反射層、多孔性液体展開層、接合層、遮光層、吸水層、下塗層および公知のその他の層を含む多重層から成ってもよい。かような分析要素として、米国特許第3,992,158号、同4,042,335号および特開昭55-164356号各明細書に開示されたものがある。

支持体を用いる場合、本発明の乾式分析要素の実用的に採り得る構成は、

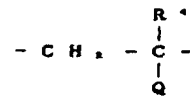
(1) 支持体上に免色層と反応層を重ねる液体展

## 【I】



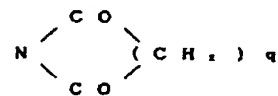
式中R'は水素原子または低級アルキル基を表わす。R''およびR'''は各々水素原子、脂肪族炭化水素基または芳香族炭化水素基を表わし、互いに同じであっても、異ってもよい。また、R''とR'''が連結して環を形成していてもよい。

## 【II】



式中R'はR'と同義である。Qは、

## (1)



(ここでqは2ないし4の重数を表わす)

## (2)



(ここでR''は炭素数1ないし4のアルキル基、R'''は水素原子または炭素数1ないし4のアルキル基を表わす)

開層を有するもの。

(2) 支持体上に免色層、その上に反応層を重ねる液体展開層を有するもの。この場合、免色層に前記親水性高分子を含む。

(3) 支持体上に免色層、反応層、液体展開層をこの順に有するもの。この場合、免色層と反応層の少なくとも一つに前記親水性高分子を含む。

(4) 支持体上に免色層、第二反応層、第一反応層、液体展開層をこの順に有するもの。この場合、免色層、第二反応層、第一反応層のいずれか少なくとも一つに前記親水性高分子を含む。

上記(1)ないし(4)において検出層と試薬層または液体展開層の間に試薬層と液体展開層の間、または第二反応層と第一反応層の間に光遮蔽層および/または遮光層を設けてもよい。

本発明においては二つ以上の層が前記親水性高分子から成ってもよい(たとえば検出層と試薬層)。この場合に検出試薬系を含む層は2以上の層から成ってもよい。酸化型ニコチンアミド補酵素、電子伝達性化合物およびフォルマザン染料を

形成し得る電子受容性化合物がすべての層に均一に含まれてもよく、また各試薬を支持体から遠い層か近い層のいずれかに、より多く分布させることもできる。たとえば、酸化型ニコチンアミド補酵素を支持体から遠い層に、電子受容性化合物を支持体に近い層に多く分布させることができる。

本発明の乾式分析要素において少なくとも一層の試薬層に含まれる検出試薬系には、酸化型ニコチンアミド補酵素が含まれる。酸化型ニコチンアミド補酵素とは、具体的には、 $\text{NAD}^+$ （ニコチンアミド・アデニンジヌクレオチド酸化型）または $\text{NADP}^+$ （ニコチンアミド・アデニンジヌクレオチド・ホスフェート酸化型）を意味する。 $\text{NAD}^+$ および $\text{NADP}^+$ のうちどちらを使用するかは、分析対象として、あるいは検出試薬として検出反応に関与する酸化還元酵素の種類に応じて決定される。

本発明の乾式分析要素において少なくとも一層の試薬層に含まれる検出試薬系には、電子伝達性化合物を含む。本発明において電子伝達性化合物

とは、被検物質の反応により生成した還元型ニコチンアミド補酵素（電子供与体）から電子を受け取って、後述する電子受容性染料形成性化合物を還元する機能を有する化合物を意味する。上記電子伝達性化合物の具体例としては、5-メチルフエナジニウム・メチルスルフェートあるいは1-メトキシ-5-メチルフエナジニウム・メチルスルフェート等のN-メチルフエナジン・メトサルフェート類およびシアホラーゼ（ジヒドロリボアミドレダクターゼ、EC1.8.4.3.）等挙げることができる。

本発明の乾式分析要素に用いられる検出試薬系には、フォルマザン染料を形成し得る化合物が含まれる。該化合物は上記電子伝達性化合物により還元され、反応後領域において検出可能な化合物（染料）を形成する物質である。本発明の乾式分析要素においてテトラゾリウム塩を用いることが好ましい。テトラゾリウム塩の具体例としては、

3, 3'-（3, 3'-ジメトキシ-4, 4'-ビフェニレン）-ビス[2-（p-ニト

ロフェニル-2H-テトラゾリウムクロライド]  
（=NBT）；

3-（p-ヨードフェニル）-2-（p-ニトロフェニル）-5-フェニル-2H-テトラゾリウムクロライド（=INT）；

3-（4, 5-ジメチル-2-チアゾリル）-2H-テトラゾリウムブロマイド（=MTT）；

3, 3'-（4, 4'-ビフェニレン）-ビス（2, 5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムクロライド）；

3, 3'-（3, 3'-ジメトキシ-4, 4'-ビフェニレン）-ビス（2, 5-ジフェニル-2H-テトラゾリウムクロライド）；および

3, 3'-（3, 3'-ジメトキシ-4, 4'-ビフェニレン）-ビス[2, 5-ビス（p-ニトロフェニル）-2H-テトラゾリウムクロライド]を挙げることができる。

なお、上記酸化型ニコチンアミド補酵素、電子伝達性化合物および染料形成電子受容性化合物を含む反応系の詳細については、

A. L. Babson等によるクリニカ・キミカ・アクタ[CLINICA CHIMICA ACTA] 12巻(1965)210-215頁；

R. J. Gay等によるクリニカル・ケミストリー[CLINICAL CHEMISTRY] Vol. 14, No. 8, 1968, 740-753頁；および、

R. D. Capps II等によるクリニカル・ケミストリー、Vol. 12, No. 7, 1966, 406-413；等の文献に記載されている。

本発明の乾式分析要素に用いられる検出試薬系は、被検試料中における様々な種類の酸化還元酵素活性の測定に使用することができる。すなわち、本発明の乾式分析要素は、酸化型ニコチンアミド補酵素が電子受容体となる全ての酸化還元酵素（脱水素酵素）の活性の測定が可能である。本発明の乾式分析要素を酸化還元酵素の活性の測定に使用する場合には、上記検出試薬系には、さらに酸化還元酵素が触媒する酸化反応（脱水素反応）の基質が加えられる。たとえば、本発明の乾式分析要素を乳酸デヒドロゲナーゼ活性測定用と

して用いる場合には、上記検出試薬系にさらに乳糖が含まれる。グルコース-6-燐酸デヒドロゲナーゼの場合には、基質としてグルコース-6-燐酸が添加される。

本発明は、乳糖デヒドロゲナーゼ活性測定要素に特に有用である。

本発明において電子受容性染料形成化合物の含まれる層の含有する親水性バインダーは実質的にゼラチンを含まず、一般式〔I〕または〔II〕で表わされる高分子化合物から成る。

一般式〔I〕中、 $R^1$ および $R^2$ で表わされる脂肪族炭化水素基及び芳香族炭化水素基、 $R^3$ 、 $R^4$ および $R^5$ で表わされるアルキル基は、無置換のもののほか、置換されたものも包含する。

$R^1$ および $R^2$ で表わされる脂肪族炭化水素基または芳香族炭化水素基は、たとえば、アリール基（たとえばフェニル基）、炭素数合計1〜12のアルキルアミノ基（たとえばジメチルアミノ基）、ヒドロキシ基、炭素数1〜6のアルコキシ基（たとえばメトキシ基）、ハロゲン原子（たと

えば塩素原子）、シアノ基などで置換されてよい。

$R^1$ と $R^2$ で表わされる置換基中の炭素数の合計は0ないし12が好ましく、特に0ないし6が好ましい。

本発明に用いられる一般式〔I〕の繰返し単位を有する重合物は一般式〔I〕で示される一種の単量体の単独重合体もしくは二種以上の単量体の間の共重合体または一般式〔I〕で示される単量体と付加重合しうる不飽和化合物との共重合体のいずれでもよい。

一般式〔I〕で示される単量体の具体例をあげれば、アクリルアミド、N-メチルアクリルアミド、N-エチルアクリルアミド、N-(n-プロピル)アクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、N-(n-ブチル)アクリルアミド、N-(tert-ブチル)アクリルアミド、N-(n-オクチル)アクリルアミド、N-(イソオクチル)アクリルアミド、N-(tert-オクチル)アクリルアミド、N-ラウリルアクリルアミド、

N-シクロヘキシルアクリルアミド、N-ベンジルアクリルアミド、N-(β-ジメチルアミノエチル)アクリルアミド、N-フェニルアクリルアミド、N-(1,1-ジメチル-3-ヒドロキシブチル)アクリルアミド、N,N-ジメチルメタクリルアミド、N,N-ジエチルアクリルアミド、N,N-ジオクチルアクリルアミド、N-(1,1-ジメチル-3-オキソブチル)アクリルアミド、N-アクリロイルモルホリン、N-メチル-N'-アクリロイルピペラジン、N-エチル-N'-アクリロイルピペラジン、N-アクリロイルピペリジン、N-(β-モルホリノエチル)アクリルアミド、N-(3,5-ジメチルモルホリノエチル)アクリルアミド、メタクリルアミド、N-メチルメタクリルアミド、N-エチルメタクリルアミド、N-(tert-ブチル)メタクリルアミド、N-(tert-オクチル)メタクリルアミド、N-ベンジルメタクリルアミド、N-シクロヘキシルメタクリルアミド、N-フェニルメタクリルアミド、N,N-ジメチルメ

タクリルアミド、N,N-ジエチルメタクリルアミド、N,N-ジプロピルメタクリルアミド、N-メチル-N-フェニルメタクリルアミド、N-メタクリロイル-N'-メチルピペラジン、N-メタクリロイルピペリジン、4-メタクリロイル-2,6-ジメチルモルホリン、N-メタクリロイル-N'-エチルピペラジンなどである。

一般式〔I〕の単量体とともに共重合体をつくる付加重合性不飽和化合物にはたとえば、アクリル酸、メタクリル酸、マレイン酸、フマル酸、イタコン酸、クロトン酸、アクリル酸エステル類、メタクリル酸エステル類、アクリル化合物、ビニルエーテル類、ビニルエステル類、ビニル異節炭化合物、スチレン類、マレイン酸エステル類、フマル酸エステル類、イタコン酸エステル類、クロトン酸エステル類、オレフィン類などがある。それらの具体例は、メチルアクリレート、エチルアクリレート、n-プロピルアクリレート、イソプロピルアクリレート、n-ブチルアクリレート、オクチルアクリレート、2-クロロエチルアクリ

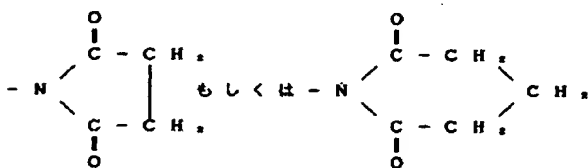
レート、2-シアノエチルアクリレート、N-(β-ジメチルアミノエチル)アクリレート、ベンジルアクリレート、シクロヘキシルアクリレート、フェニルアクリレート；メチルメタクリレート、エチルメタクリレート、n-プロピルメタクリレート、イソプロピルメタクリレート、n-ブチルメタクリレート、オクチルメタクリレート、シクロヘキシルメタクリレート、ベンジルメタクリレート、3-スルホプロピルメタクリレート；アリルブチルエーテル、アリルフェニルエーテル；メチルビニルエーテル、ブチルビニルエーテル、オクチルビニルエーテル、メトキシエチルビニルエーテル、2-クロロエチルビニルエーテル、2-ヒドロキシエチルビニルエーテル、(2-ジメチルアミノエチル)ビニルエーテル、ビニルフェニルエーテル、ビニルトリルエーテル、ビニルクロルフェニルエーテル；ビニルピリジン、N-ビニルイミダゾール、N-ビニルカルバゾール、ビニルチオフェン；スチレン、クロルメチルスチレン、p-アセトキシスチレン、p-メチル

スチレン；p-ビニル安息香酸、p-ビニル安息香酸メチル；クロトンアミド、クロトン酸ブチル、グリセリンモノクロトネート；メチルビニルケトン、フェニルビニルケトン；エチレン、プロピレン、1-ブテン、シシクロペンタジエン、4-メチル-1-ヘキセン、4,4-ジメチル-1-ペンテンなど；イタコン酸メチル、イタコン酸エチル、イタコン酸ジエチルなど；ソルビン酸メチル、マレイン酸エチル、マレイン酸ブチル、マレイン酸ジブチル、マレイン酸オクチルなど；フマル酸エチル、フマル酸ジブチル、フマル酸オクチルなど；ハロゲン化オレフィン類、たとえば、塩化ビニル、塩化ビニリデン、イソブレンなど；不飽和ニトリル類、たとえばアクリロニトリル、メタクリロニトリルなどがあり、必要に応じて2種以上用いることもできる。一般式〔Ⅱ〕で表わされるような繰返し単位を同時に有することもできる。これらの単量体の中でも、重合体の溶解性、製油性、親水性、保護コロイドとの親和性などの点から、アクリル酸エステル類またはメタク

リル酸エステル類が好適である。一般式〔Ⅰ〕で表わされる繰返し単位を含む共重合体の組成比については、とくに制限はないが、一般式〔Ⅰ〕で示される成分が20～100モル%であることが好ましく、特に好ましくは同成分が40～100モル%である。

一般式〔Ⅰ〕で表わされる繰返し単位のうち好ましいのは、R<sup>4</sup>が水素原子を、Qが、

(1)



(2)  $-\text{N}-\text{C}-\text{R}^4$  において、R<sup>4</sup>がメチル

基かエチル基、R<sup>4</sup>が水素原子基、メチル基またはエチル基を表す場合、

(3)  $-\text{N}-\text{C}-\text{O}$  においてZ<sup>1</sup>が5員または

Z<sup>1</sup>

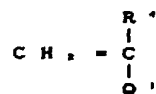
6員のラクタムまたはオキサゾリドンを形成する場合のいずれかを表す場合である。

特に好ましいのは、Qが、ピロリドン残基またはオキサゾリドン残基をあらわす場合である。

一般式〔Ⅱ〕によって表される繰返し単位を有する重合体は、単独重合体のみならず共重合体でもよい。

すなわち一般式〔Ⅱ〕

〔Ⅱ〕



で表される単量体の単独重合もしくは二つ以上の単量体の間の共重合、またはこれと付加重合し得る不飽和化合物との共重合により得られる重合体である。

一般式〔Ⅱ〕で示される単量体の具体例としては、N-ビニルサクシンイミド、N-ビニルグルタルイミド、N-ビニルアジピイミド、N-メチ

ル-N-メチル-N-ビニルホルムアミド、N-メチル-N-ビニルアセトアミド、N-エチル-N-ビニルアセトアミド、N-メチル-N-ビニルプロピオンアミド、N-ビニルピロリドン、N-ビニルピペリドン、N-ビニル-γ-カプロラクタム、N-ビニルオキサゾリドン、N-ビニルモルホリン、N-ビニル-2-ピリドンなどがある。このうち好ましいものは、たとえば酢酸ビニル、N-ビニルサクシンイミド、N-ビニルグルタルイミド、N-メチル-N-ビニルアセトアミド、N-エチル-N-ビニルアセトアミド、N-ビニルピロリドン、N-ビニルピペリドン、N-ビニルオキサゾリドンなどである。特に好ましいものは、N-ビニルピロリドンである。

一般式【II】で示される単量体とともに共重合体をつくる付加重合性不飽和化合物は、一般式【I】で示される単量体について示したもののほか、アクリル酸、メタクリル酸、無水マレイン酸、アクリルアミド、N-メチルアクリルアミド、N、N-ジメチルアクリルアミド、N-エチ

ルアクリルアミド、N-(β-ヒドロキシエチル)アクリルアミド、メタアクリルアミド、N-メチルメタクリルアミドなどでもよい。それらのうち生成重合体の親水性などの点から好ましいのは、アクリル酸、メタクリル酸、2-ヒドロキシエチルアクリレート、2-メトキシエチルアクリレート、スルホプロビルアクリレート、アクリルアミド、ジメチルアクリルアミド、2-アクリロイルアミノ-2-メチルプロパンスルホン酸、ヒドロキシエチルアクリルアミド、メタクリルアミド、メチルビニルエーテル、スチレンスルホン酸ナトリウム、N-ビニル-3,5-ジメチルトリアゾール、無水マレイン酸などである。一般式【II】で表わされる繰返し単位を有する共重合体の組成比については、特に制限はないが、一般式【II】で表される成分が20~100モル%であることが好ましく、特に好ましくは同成分が50~100モル%である。

一般式【I】または【II】で表される繰返し単位を有する重合体又は共重合体の合成には、英国

特許第1211039号、特公昭47-29195号、特開昭48-76593号、同48-92022号、同49-21134号、同49-120634号、英国特許961395号、米国特許3227672号、同3290417号、同3262919号、同3245932号、同2681897号、同3230275号、ジョン・シー・ペトロプーロス他(John C. Petropoulos et al)著、「オフィシャルダイジェスト」(Official Digest), Vol. 33, 719-736頁(1961)、村橋俊介ら編「合成高分子」Vol. 1, 246-290頁、Vol. 2, 1-108頁などに記載の方法を参考にして行なうことができる。目的に応じて重合開始剤、温度、重合温度、反応時間などを時間などを広く、かつ容易に変更できることはいうまでもない。

重合は一般に20~180℃で、好ましくは40~120℃にて、重合すべき単量体に対して通常0.05~5重量%のラジカル重合開始剤を用いて行なわれる。開始剤としてはアゾビス化合物、パーオキサイド、ハイドロパーオキサイド、レド

ックス触媒など、たとえば過酸種カリウム、Lerl-ブチルパーオクトエート、ベンゾイルパーオキサイド、アゾビスイソブチロニトリル等がある。

本発明に用いられる前記重合体の分子量は通常約2千以上である。好ましくは8000~70000程度のもので用いられる。しかしこれらの値は本発明の効果を得るための臨界的なものではない。

本発明に用いられる一般式【I】で表される繰返し単位を有する代表的な重合体の具体例には、次のようなものがある。

- (1) ポリ(N-エチルアクリルアミド)
- (2) ポリアクリルアミド
- (3) ポリ(N, N-ジメチルアクリルアミド)
- (4) ポリメタクリルアミド
- (5) アクリルアミド-エチルアクリレート共重合体(モル比40:60)
- (6) N, N-ジメチルアクリルアミド-メチルアクリレート共重合体(モル比50:50)



- (7) アクリルアミド-ブチルアクリレート共重合体 (モル比60:40)
- (8) N-アクリルアミド-エチルアクリレート共重合体 (モル比50:50)
- (9) N、N-ジメチルアクリルアミド-マレイン酸共重合体 (モル比70:30)
- (10) アクリルアミド-エチルアクリレート共重合体 (モル比40:60)
- (11) アクリルアミド-エチルアクリレート共重合体 (モル比50:50)
- (12) N-メチルアクリルアミド-エチルアクリレート共重合体 (モル比50:50)
- (13) N-エチルアクリルアミド-アクリル酸共重合体 (モル比30:70)
- (14) N-メチルメタクリルアミド-エチルアクリレート共重合体 (モル比50:50)
- (15) N、N-ジメチルメタクリルアミド-プロピルアクリレート共重合体 (モル比35:65)

- (28) N-ビニルピロリドン-ビニルアセテート共重合体 (モル比70:30)
- (29) N-ビニルピロリドン-2-ヒドロキシエチルアクリレート共重合体 (モル比80:20)
- (30) N-ビニルピロリドン-アクリル酸共重合体 (モル比90:10)
- (31) N-ビニルピペリドン-2-メトキシエチルアクリレート共重合体 (モル比70:30)
- (32) N-ビニルピペリドン-メチルビニルエーテル共重合体 (モル比90:10)
- (33) N-ビニルオキサゾリドン-ビニルアルコール共重合体 (モル比65:35)
- (34) N-ビニルオキサゾリドン-アクリル酸共重合体 (モル比80:20)
- (35) N-ビニルピロリドン-N-ビニルピペリドン-ヒドロキシエチルアクリレート共重合体 (モル比40:30:30)

- (16) N-アクリロイルモルホリン-エチルアクリレート共重合体 (モル比40:60)
- (17) ポリ(N-(3-ジメチルアミノプロピル)アクリルアミド)
- (18) ポリ(N-メタクリロイルピペラジン)  
一般式[II]で表される繰返し単位を含む重合体の代表的な具体例には次のようなものがある。
- (19) ポリ(N-ビニルピロリドン)
- (20) ポリ(N-ビニルオキサゾリドン)
- (21) ポリ(N-ビニルサクシンイミド)
- (22) ポリ(N-ビニルグルタリイミド)
- (23) ポリ(N-ビニルピペリドン)
- (24) ポリ(N-ビニル-γ-カプロラクタム)
- (25) ポリ(N-メチル-N-ビニルアセトアミド)
- (26) ポリ(N-エチル-N-ビニルアセトアミド)
- (27) ビニルアルコール-N-ビニルピロリドン共重合体 (モル比30:70)

- (36) ビニルアルコール-ビニルアセテート-N-ビニル-2-ピロリドン共重合体 (モル比70:25:5)
- (37) N-ビニルピロリドン-2-ヒドロキシエチルアクリレート-ビニルアセテート共重合体 (モル比70:20:10)
- (38) N-ビニルピロリドン-ビニルアルコール-ビニルプロピオネート-スチレンスルホン酸ソーダ共重合体 (モル比40:40:5:15)

一般式[II]で表される繰返し単位を有する重合体は、たとえば、下記のごとき重合体であってもよい。

- (39) N-ビニルピロリドン-アクリルアミド共重合体 (モル比60:40)
- (40) N-ビニルピロリドン-2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸共重合体 (モル比75:25)
- (41) N-ビニルピロリドン-2-メタクリルアミド共重合体 (モル比60:40)

- (42) N-ビニルオキサゾリドン-N-(2-ヒドロキシエチル)アクリルアミド共重合体(モル比60:40)
- (42) N-ビニルオキサゾリドン-N-(2-ヒドロキシエチル)アクリルアミド共重合体(モル比70:30)
- (43) N-ビニルピロリドン-N-ビニルモルホリン-アクリルアミド共重合体(モル比50:20:30)
- (44) N-ビニルサクシンイミド-N-ビニル-ε-カプロラクタム-アクリルアミド共重合体(モル比40:20:40)
- (45) N-ビニルオキサゾリドン-アクリルアミド-アクリル酸共重合体(モル比60:20:20)
- (46) N-ビニルピロリドン-アクリルアミド-ビニルアセテート-アクリル酸共重合体(モル比60:20:10:10)
- (47) N-ビニルピロリドン-ジメチルアクリルアミド共重合体(モル比70:30)

前記酸化還元酵素が触媒する酸化反応の基質の液体試料中における濃度を測定する目的に本発明の乾式分析要素を用いることもできる。この場合には、この酸化還元酵素が本発明の分析要素の検出試薬系に含まれなければならない。

さらに、本発明の乾式分析要素は、他の化学反応を上記検出反応と共役させることにより、上記以外の酵素活性あるいは物質濃度の測定に用いることも可能である。この場合には、共役させる化学反応に必要な試薬類が、上記検出試薬系に含まれる。たとえば、酵素共役反応にて脱水基酵素に共役できるクレアチンキナーゼ活性測定の場合には、クレアチン燐酸、グルコース、ヘキソキナーゼ等が添加される。

本発明の乾式分析要素は、カルボン酸系補酵素安定化剤を、酸化型ニコチンアミド補酵素と同様の層内に含有することが好ましい。前述したように、本発明において、カルボン酸系補酵素安定化剤とは、酸化型ニコチンアミド補酵素および電子伝達性化合物が接触した状態において、添加するこ

とにより、酸化型、ニコチンアミド補酵素の保存性を向上させる機能を有するカルボン酸を意味する。上記カルボン酸は、上記検出反応(他の化学反応を検出反応と共役させる場合には、この共役反応を含む)には、実質的に影響を与えることのないカルボン酸であることが好ましい。

本発明の乾式分析要素にカルボン酸系補酵素安定化剤として好ましく用いられるカルボン酸の例としては、アミン性窒素原子を有するカルボン酸およびヒドロキシカルボン酸を挙げるができる。上記アミン性窒素原子を有するカルボン酸の具体例としては、エチレンジアミン四酢酸、N、N-ジヒドロキシエチルグリシン、N-ヒドロキシエチルエチレンジアミン-N、N'、N-三酢酸および酸性アミノ酸(グルタミン酸およびアスパラギン酸)を、またヒドロキシカルボン酸の具体例としては、クエン酸、リンゴ酸、トリス(ヒドロキシメチル)-メチルグリシン、N、N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-グリシンおよびアルドン酸(例、グルコン酸)を挙げるこ

きる。

本発明の乾式分析要素の検出試薬系とカルボン酸を含有する層には、親水性ポリマー、緩衝剤あるいは光遮蔽性微粒子等を必要に応じて含有させることができる。

本発明の乾式分析要素の検出試薬系を含有する層には、前記一般式 (I) または (II) で表わされる単量体の重合体または共重合体以外の親水性ポリマーを含むこともできる。例えば、澱粉、セルロース、アガロース、アクリル酸重合体およびアクリル酸と各種ビニル性モノマーとの共重合体等を含むことができる。

上記親水性ポリマーを、乾式分析要素の検出試薬系を含有する展開層に含有させる場合には、約  $2 \text{ g/m}^2$  から約  $15 \text{ g/m}^2$  の範囲で含有させることが好ましい。特に好ましいのは、約  $2 \text{ g/m}^2$  から約  $10 \text{ g/m}^2$  の範囲である。

本発明の乾式分析要素の検出試薬系を含有する層に含有させることができる緩衝剤の例としては、炭酸塩、ホウ酸塩、磷酸塩やグッド (Good)

容易に作成することができる。また、上記ポリマー等からなる透明支持体表面に光反射性色材を塗布するか、または光反射性色材からなる粘着テープを貼る等によっても容易に作成することができる。

これら支持体の表面には、必要により下塗層を設けて、支持体の上に設けられる吸水層あるいは検出試薬系とカルボン酸系補酵素安定剤を含有する層と支持体との接着を強固なものにすることができる。また、下塗層の代りに、支持体の表面に物理的あるいは化学的な活性化処理を施して接着力の向上を図ってもよい。

本発明の乾式分析要素は、光透過性水不透過性支持体と発色層との間に (下塗層等を介してもよい) 吸水層を設けてもよい。

吸水層は親水性粘着剤よりなる層、すなわち水を吸収して膨潤する親水性ポリマーを層形成成分として利用している層であることが好ましい。

吸水層に用いることができる親水性ポリマーは、一般には水吸収時の膨潤率が、 $30^\circ\text{C}$  で約

の緩衝剤などの公知の緩衝剤を挙げることができる。緩衝剤は『蛋白質・酵素の基礎実験法』(堀尾武一、他著、南江堂、1981) 等の公知文献を参考にして選択することができる。

本発明の乾式分析要素の検出試薬系を含有する層には、さらに後述する光遮蔽層に用いられる光遮蔽性微粒子を含有させることもできる。

本発明の乾式分析要素に用いることができる光透過性・水不透過性支持体の例としては、ポリエチレンテレフタレート、ビスフェノール A のポリカルボネート、ポリスチレン、セルロースエステル (例、セルロースジアセテート、セルローストリアセテート、セルロースアセテートプロピオネート) のポリマーからなる厚さ約  $50 \mu\text{m}$  から約  $1 \text{ mm}$ 、好ましくは約  $80 \mu\text{m}$  から約  $300 \mu\text{m}$  の範囲のフィルム、もしくはシート状の透明支持体を挙げることができる。

本発明の乾式分析要素に用いることができる光不透過性または光反射性支持体としては、上記ポリマー中に光反射性色材を含有させることにより

$150\%$  から約  $2000\%$ 、好ましくは約  $250\%$  から約  $1500\%$  の範囲の天然または合成親水性ポリマーである。そのような親水性ポリマーの例としては、ゼラチン (例、酸処理ゼラチン、脱イオンゼラチン等)、ゼラチン誘導体 (例、フタル化ゼラチン、ヒドロキシアクリレートグラフトゼラチン等)、アガロース、プルラン、プルラン誘導体、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン等をあげることができる。

吸水層の乾燥時の厚さは約  $1 \mu\text{m}$  から約  $100 \mu\text{m}$  の範囲であることが好ましく、より好ましくは約  $3 \mu\text{m}$  から約  $30 \mu\text{m}$  の範囲である。また吸水層は実質的に透明であることが好ましい。さらに吸水層には、必要に応じて界面活性剤や緩衝剤を含有させることもできる。

発色層または反応層の上 (支持体から遠い側) には、必要に応じて光遮蔽層を設けることができる。光遮蔽層は、光吸収性、または光散乱性と光反射性を備えた微粒子が皮膜形成能を有する親水

性ポリマーバインダーに分散保持されている水透過性または水浸透性の層である。光遮蔽層は吸水層にて発生した検出可能な変化（色変化、発色等）を光透過性を有する支持体側から反射顕光する際に、検出試薬系とカルボン酸を含有する展開層に点着供給された水性液体の色、特に試料が全血である場合のヘモグロビンの赤色等を遮蔽するとともに、光反射層または存留層としても機能する。

光散乱性と光反射性を備えた微粒子の例としては、二酸化チタン微粒子（ルチル型、アナターゼ型またはブルカイト型の結晶粒子等）、硫酸バリウム微粒子、アルミニウム微粒子または微小フレーク等を挙げることができ、光吸収性微粒子の例としては、カーボンブラック等を挙げることができ、これらのうちでは二酸化チタン微粒子、硫酸バリウム微粒子が好ましい。

皮膜形成能を有する親水性ポリマーバインダーの例としては、ほかに、弱親水性の再生セルロー

ン、ゼラチン誘導体、ポリアクリルアミド等が好ましい。接着層の乾燥膜厚は一般に約0.5 $\mu$ mから約20 $\mu$ m、好ましくは約1 $\mu$ mから約10 $\mu$ mの範囲である。なお、接着層は吸水層上以外にも、他の層間の接着力を向上させるため所望の層上に設けてもよい。接着層は、親水性ポリマーと、必要によって加えられる界面活性剤等を含む水溶液を公知の方法で、支持体や吸水層等の上に塗布する方法などにより設けることができる。

展開層は、液体計量作用を有する展開層であることが特に好ましい。液体試料計量作用を有する展開層とは、その表面に点着供給された液体試料を、その中に含有している成分を実質的に偏在させることなく、横（水平）方向に、単位面積当りほぼ一定量の割合で広げる作用を有するものである。

展開層のマトリックスを構成する材料としては、濾紙、不織布、織物生地（例、ブロード、ポプリン等の平織等）編物生地（例、トリコット編み、ダブルトリコット編み、ミラニーズ編等）ガ

ス、セルロースアセレート等を挙げることができ、これらのうちではゼラチン、ゼラチン誘導体、ポリアクリルアミド等が好ましい。なお、ゼラチン、ゼラチン誘導体には公知の硬化剤（架橋剤）を添加することができる。

光遮蔽層は、光遮蔽性微粒子と親水性ポリマーとの水性分散液を公知の方法により吸水層等の上に塗布し乾燥することにより設けることができる。また、光遮蔽層を設ける代りに、展開層中に光遮蔽性微粒子を含有させてもよい。

なお、発色層や反応層の上に、場合によっては光遮蔽層等の層を介して、展開層を接着し粘着層のために接着層を設けてもよい。接着層は水で湿潤しているとき、または水を含んで膨潤しているときに展開層を接着することができ、これにより各層を一体化できるような親水性ポリマーからなることが好ましい。接着層の製造に用いることができる親水性ポリマーの例としては、吸水層の製造に用いられる親水性ポリマーと同様な親水性ポリマーがあげられる。これらのうちではゼラチ

ン、セルロースアセレート等を挙げることができ、これらのうちではゼラチン、ゼラチン誘導体、ポリアクリルアミド等が好ましい。接着層の乾燥膜厚は一般に約0.5 $\mu$ mから約20 $\mu$ m、好ましくは約1 $\mu$ mから約10 $\mu$ mの範囲である。なお、接着層は吸水層上以外にも、他の層間の接着力を向上させるため所望の層上に設けてもよい。接着層は、親水性ポリマーと、必要によって加えられる界面活性剤等を含む水溶液を公知の方法で、支持体や吸水層等の上に塗布する方法などにより設けることができる。

本発明の乾式分析要素に用いることができる織物生地または編物生地は水洗等の脱脂処理により少なくとも糸製造時、織物製造時あるいは編物編成時に供給または付着した油脂類を実質的に除去した織物または編物生地が好ましい。

上記織物または編物生地を一体型多層分析要素の展開層として用いる場合には、さらにその織物または編物生地に特開昭57-66359号公報に開示の物理的活性化処理（好ましくはグロー放電処理またはコロナ放電処理等）を生地の少なくとも片面に施すか、あるいは特開昭55-164356号、特開昭57-66359号公報等に開示の親水性ポリマー含浸処理等の親水化処理またはこれらの処理工程を逐次実施することにより

織物または編物を親水化し、下側（支持体に近い側）の層との接着力を強化することができる。

織物または編物生地からなる一体型多層分析要素の展開層を前述した吸水層、接着力等に接合、積層するには、特開昭55-164356号および特開昭57-66359号各公報等に記載の方法に従って作成することができる。すなわち吸水層、接着力等の塗布後未乾燥のうちに、または乾燥後の層に水（または界面活性剤を少量含む水）を実質的に均一に供給して層を膨潤させ、ついで織物または編物生地の膨潤または膨潤している層の上に実質的に均一に軽く圧力をかけながら接合、積層一体化する。

展開層がブラッシュポリマーまたはメンブランフィルターからなる場合には特公開53-21677号公報等、ポリマーマイクロビーズからなる三次元格子状構造物である場合には特開昭55-90859号公報等、濾紙または不織布からなる場合には特開昭57-148250号公報等にそれぞれ記載の方法に従って設けることができる。

塗布により形成される層、例えばブラッシュポリマー層やマイクロビーズ三次元格子状粒子構造体等からなる層の場合には、この層の塗布液と試薬等の塗布液を混合して塗布してもよい。

展開層に試薬等を含有させる場合に、いくつかの試薬毎に異なる方法を用いることもできる。また、いくつかの試薬毎に数回に分けて行うこともできる。

本発明の乾式分析要素は、一辺約15mmから約30mmの正方形またはほぼ同サイズの円形等の小片に裁断し、特開昭57-63452号、特開昭54-156079号、実開昭56-142454号、実開昭58-32350号、特開昭58-501144号各公報等に記載のスライド枠等に納めて分析スライドとして用いるのが製造、包装、輸送、保存および測定操作等の点で好ましい。

本発明の乾式分析要素は、約5 $\mu$ lから約30 $\mu$ l、好ましくは約8 $\mu$ lから約15 $\mu$ lの水溶性試料を展開層に点状供給し、必要に応じて約

前述した接着力等の親水性高分子結合剤がゼラチンまたはゼラチン誘導体である場合には、層の塗布後、ゼラチン（または誘導体）が未乾燥のゲル状態の間に上記展開層を構成する材料（織物または編物生地等）を接合、積層一体化する方法を採用することができる。

検出試薬系を含有する層に前記の検出試薬系、緩衝剤あるいは光遮蔽性微粒子等を含有させるに際して、上記試薬等を含有する塗布液を展開層の上から塗布または噴霧し乾燥する方法も用いることができる。

また織物、編物、濾紙、不織布およびガラス繊維濾紙等からなる展開層に検出試薬系の少なくとも一部を含有する場合には、上記試薬等を含有する溶液に展開層を浸漬したのち乾燥する方法を用いることができる。また、一体型多層分析要素とするため、上記のような展開層をラミネートにより積層する場合には、上記のように浸漬した展開層を乾燥または半乾燥状態で他の層に積層一体化する方法を用いることもできる。

20℃から約45℃の範囲の実質的に一定の温度でインキュベーションして使用する。その後、一方の側から（一体型多層分析要素においては光透過性支持体側から）乾式分析要素内の色変化、発色等の検出可能な変化を反射測光比色法の原理により液体試料中の測定対象成分を分析する。

#### 【実施例】

##### 【実施例1】

下塗りされている厚さ180 $\mu$ mのポリエチレンテレフタレート無色透明平削フィルム上に下記組成（a<sub>1</sub>）の水溶液を塗布（100cc/m<sup>2</sup>）し、乾燥した（発色層）。

（a<sub>1</sub>）

ポリアクリルアミド 100g

（20%水溶液）

界面活性剤 0.4g

（オリン社製Surfactant 10G）

pHを調節 8.5に

INT 1g

（メタノール10ml + 水10mlに溶解）

次に、上記発色層上に、下記組成 (b) の水溶液を塗布し (120 cc/m<sup>2</sup>)、乾燥した (反応層)。

(b)

ポリアクリルアミド	100 g
(20%水溶液)	
乳糖リチウム	0.9 g
NAD	0.3 g
ジアホラーゼ	4000 IU
pHを調節	7.0に

次に上記反応層上に、約30 g/m<sup>2</sup>の割合で水を全面に供給して凝調させた後、ポリエステル製トリコット織物 (厚さ0.25 mm) を、軽く圧力をかけながらラミネートし、乾燥して接合させた (展開層)。

次にこの布 (展開層) 上に、それぞれ下記の組成 (c) の水溶液を120 cc/m<sup>2</sup>の割合でほぼ均一に塗布し、乾燥させ、LDH活性測定用一体系多層分析要素を作製した。

調製後1時間、2時間、3時間、6時間、24時間経過させたものについて、それぞれ被長500 nmにおける分光透過濃度を測定した (セル厚さ10 mm)。その結果を第1表に示す。

第1表

放置時間	塗布液	
	(a <sub>1</sub> )	(a <sub>2</sub> )
1	0.023	0.315
2	0.025	0.532
3	0.046	0.820
6	0.098	0.887
24	0.285	1.151

第1表で明らかなように、結合剤としてポリアクリルアミドを用いた発色層塗布液は、調製後6時間経過しても発色濃度が充分低く、塗布液の経時で生じた染料の量がわずかである。ゼラチンを用いた比較例は、液を3時間以上放置した場合著

(c)

トリスヒドロキシメチルアミノメタン	1.2 g
ポリビニルピロリドン	100 mg
(5%エタノール溶液)	

[比較例1]

比較のために、上記組成 (a<sub>1</sub>) の溶液の代わりに下記組成 (a<sub>2</sub>) の溶液を用い、それ以外は実施例1と同様にしてLDH活性測定用分析要素を作製した。

(a<sub>2</sub>)

ゼラチン	100 g
(10%水溶液)	
界面活性剤	0.4 g
(オリン社製 Surfactant 10G)	
pHを調節	6.5に
INT	1 g

[測定例1]

上記実施例1および比較例1の発色層の塗布液 (a<sub>1</sub>) および (a<sub>2</sub>) を温度40℃に保って、

しい発色を生じた。

[測定例2]

上記組成 (a<sub>1</sub>) の代わりに下記組成 (a<sub>3</sub>) を用いたこと以外は、測定例1と同様にして発色層塗布液を作製した。

(a<sub>3</sub>)

ポリアクリルアミド	100 g
20%水溶液	
界面活性剤	0.4 g
(オリン社製 Surfactant 10G)	
pHを調節	6.5に
NBT	1 g

比較のために、上記組成 (a<sub>2</sub>) の溶液の代わりに下記組成 (a<sub>4</sub>) の溶液を用い、それ以外は比較例1と同様にして発色層塗布液を作製した。

(a<sub>4</sub>)

ゼラチン	100 g
(10%水溶液)	
界面活性剤	0.4 g

pHを調節 6.5に  
NBT 1g

上記塗布液(a.)および(a.)を温度40℃に保って、調製後1時間、2時間、3時間、6時間、24時間経過させ、それぞれ波長540nmにおける分光透過度を測定した。その結果を第2表に示す。

第2表

放置時間	塗布液	
	(a.)	(a.)
1	0.022	0.370
2	0.025	0.526
3	0.052	0.682
6	0.079	1.012
24	0.187	1.710

第2表で明らかなように、結合剤としてポリアクリルアミドを用いた塗布液(a.)は、調製後

を第3表に示す。

第3表

放置時間	反射率
1(時間)	0.123
2	0.136
3	0.141
6	0.150

[測定例4]

測定例3における塗布液(a.)中のINTの代わりにNBTを0.5g用いた以外は、測定例3と同様にして、免色層塗布液を調製した。

上記塗布液を温度40℃に保って、調製後1時間、2時間、3時間、6時間経過させたものについて、波長550nmにおける分光透過度を測定した(セル厚さ10mm)。その結果を第4表に示す。

6時間経過しても、免色度が充分低く、塗布液の経時で生じた染料の量がわずかである。ゼラチンを用いた比較例(a.)は、液を3時間以上放置した場合著しい免色を生じた。

[測定例3]

実施例1における塗布液(a.)の代わりにポリビニルピロリドンを含む下記組成(a.)を用い実施例1と同様にして、免色層塗布液を作製した。

(a.)

ポリビニルピロリドン 100g  
(20%水溶液)

界面活性剤 0.4g

(オリン社製 Surfactant 100)

pHを調節 6.5に

INT 0.8g

上記塗布液を温度40℃に保って、調製後1時間、2時間、3時間、6時間経過させたものについて、それぞれ波長500nmにおける分光透過度を測定した(セル厚さ10mm)。その結果

第4表

放置時間	反射率
1(時間)	0.024
2	0.027
3	0.028
6	0.038

第3表および第4表で明らかなように、結合剤としてポリビニルピロリドンを用いた場合は、塗布液の調製後6時間経過しても、免色度(背景率)が十分低く、液の経時で生じた染料の量がわずかであった。

[実施例2]

下塗りされている厚さ180μmのポリエチレンテレフタレート無色透明平滑フィルム上に下記組成(a.)の水溶液を塗布(100cc/m)し、乾燥した(免色層)。

(a.)

ビニルピロリドンー 100 g

アクリルアミド共重合体

(重合比1:1)

(15%水溶液)

界面活性剤 0.4 g

(オリン社製 Surfactant 10 G)

pHを調節 6.5に

INT 1.0 g

(メタノール10ml + 水10ml中に溶解)

次に上記免色膜上に、下記組成(b.)の水溶液を塗布し、(150cc/m<sup>2</sup>)、乾燥した(反応膜)。

(b.)

ビニルピロリドンー 100 g

アクリルアミド共重合体

(重合比1:1)

(15%水溶液)

界面活性剤 0.4 g

(オリン社製 Surfactant 10 G)

点着し、分析要素を密閉容器中で37℃に保った際の、1分後から5分後の間の反射濃度を波長540nmで測定した。また、ヒト血清アルブミン(7%)を用いて、同様に測定した。その結果を第5表に示す。

第5表

測定時間	反射濃度	
	管理血清	HSA
1(分)	0.632	0.411
2	0.737	0.428
3	0.811	0.439
4	0.862	0.448
5	0.905	0.468

## [測定例5]

実施例2に従って調製した免色膜形成用塗布液

(a.)を調製後温度37℃で1時間、3時間、または6時間放置した後に、分光透過濃度(波長

乳酸リチウム 1.9 g

NAD 0.4 g

シアホラーゼ 2400IU

pHを調節 7.0に

次に上記ゼラチン膜上に約30g/m<sup>2</sup>の割合で水を全面に供給して湿潤させた後、ポリエステル製トリコト編み物(厚さ0.25mm)を、軽く圧力をかけながらラミネートし、乾燥して張着させた(展開膜)。

次にこの布(展開膜)上に、下記組成(c.)の水溶液を120cc/m<sup>2</sup>の割合でほぼ均一に塗布し、乾燥させ、LDH活性測定用一体系多層分析要素を作製した。

(c.)

トリスヒドロキシメチルアミノメタン

1.2 g

ポリビニルピロリドン 100ml

(10%エタノール溶液)

実施例2の分析要素に市販管理血清モニタールII X (LDH470U/Lを含む)を10μl

500nm、セル厚さ100mm)を測定した。結果を第6表に示す。

第6表

調液後 放置時間	分光透過濃度 (実施例5)
1(時間)	0.009
3	0.045
6	0.077

第6表から明らかなごとく、本発明の乾式分析要素の免色膜塗布液は、液の放置による劣化を受けにくい。

特許出願人 富士写真フイルム株式会社  
代理人 弁理士 柳川泰男